

Adatok a Balatonban élő busa fajok béltartalmának baktériumközösségeiről

László Kristóf¹, Jáger Katalin¹, Krett Gergely¹, Boros Gergely², Specziár András², Borsodi Andrea¹

¹ELTE Mikrobiológiai Tanszék, 1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/C

²MTA ÖK Balatoni Limnológiai Intézet, 8237 Tihany, Klebelsberg Kuno utca 3

Kivonat:

A Balatonban a közel 30 évvel ezelőtt végzett utolsó telepítés óta is nagy tömegben fordulnak elő a szűrő táplálkozású fehér (*Hypophthalmichthys molitrix*) és pettyes (*Hypophthalmichthys nobilis*) busák, illetve főleg ezek hibridje. E nagy húshozamú és jelentős állományalkotó halak táplálkozási szokásáról és életmódjáról ismereteink még bővítésre szorulnak. Jelen vizsgálat során 3, a Balatonból 2011 szeptemberében kifogott busa egyed elő-, közép- és utóbél-szakaszából származó béltartalom minták bakteriológiai vizsgálatát végeztük el tenyésztés és molekuláris biológiai módszerek alkalmazásával. Tenyésztéssel a béltartalom mintákban átlagosan 10^7 - 10^8 /g csíraszám értéket határoztunk meg az alkalmazott táptalajok összetételétől függetlenül. A fehér busából származó és a 16S rDNS bázisrend elemzés alapján faji szinten meghatározott törzsek között az előbélben az *Aeromonas veronii*, a *Brevundimonas vesicularis*, a *Micrococcus endophyticus* és a *Bacillus halmapalus* fajok képviselői fordultak elő. A középbélből az *Aeromonas veronii*, a *Micrococcus yunnanensis* és a *Roseomonas mucosa*, míg az utóbélből az *Acinetobacter lwoffii*, a *Paracoccus yeei* és a *Lactococcus garvieae* fajok képviselői kerültek elő. A béltartalom mintákból származó 16S rRNS génszakaszok denaturáló gradiens gélelektroforézis vizsgálata során nyert sávmintázatok elemzése arra utalt, hogy az ugyanabból az egyedből származó elő- és középbél minták baktériumközösségei hasonlítottak egymáshoz legjobban, s elkülönültek az utóbél minták baktériumközösségeitől.

Kulcsszavak: busa, bélmikrobióta, diverzitása, tenyésztés, DGGE.

Bevezetés

Az 1970-es és 1980-as évek között, a tó eutrofizációjának visszaszorítása és gazdasági célú halhústermelés céljából nagy tömegben telepítettek a Balatonba fehér (*Hypophthalmichthys molitrix*) és pettyes busát (*H. nobilis*), de főként e két faj hibridjét. Ezeknek az idegen honos, Kelet-Ázsiából származó halaknak a telepítése azonban nem érte el a kívánt eredményt, hiszen nem csökkentette érdemben a tó algásodását, ezért a telepítést 1983-ban leállították. Napjainkban a busa fajok jelenléte komoly ökológiai kockázatot jelent, mivel táplálék konkurencsei lehetnek az őshonos halfajok ivadékainak és más planktonfogyasztóknak (Boros és mtsai, 2012; Tátrai és mtsai, 2005).

Az MTA ÖK Balatoni Limnológiai Intézetének munkatársai által 2010-ben indított kutatás célja a busa fajok táplálkozási szokásainak, életmódjának, élőhely választásának, esetleges szaporodásának, és számos egyéb, ökológiai szempontból fontos tényezőnek jobb megismerése, ill. a meglévő ismeretek bővítése. Az ELTE Mikrobiológiai Tanszéke 2011-ben kapcsolódott be ezekbe a kutatásokba. Jelen vizsgálat célja a balatoni busák bélbiotájának, ezen belül az egyes bélszakaszok mikrobiális közösségszerkezeti változásának a megismerése volt.

Vizsgálati anyagok és módszerek

A mikrobaközösségek filogenetikai diverzitását tenyésztésen alapuló módszerek, és egy tenyésztéstől független molekuláris biológiai eljárás, a Denaturáló Gradiens Gél Elektroforézis (DGGE) segítségével vizsgáltuk.

Vizsgálatainkhoz a 2011 szeptemberében kifogott három egyed elő-, közép-, és utóbél (E, K, U) szakaszaiból származó mintákat használtunk fel; a minták egy fehér busa jellegű egyedtől (1109/5), s két hibrid busától (1109/3, 1109/6) származtak. Az egyedek faji hovatartozását morfológiai bélyegek alapján határoztuk meg.

Az így kapott 9 béltartalom mintából hígítási sort készítettünk, és R2A (DSM 830), nutrient (DSM-1), valamint Czapek (DSM 84) lemeztáptalajokra szélesztettünk. A két hetes inkubációs idő után csíraszám becslést végeztünk, majd a különálló telepeket izoláltuk. A törzsek faji szintű azonosításához, a fizikai

sejtfeltárást és DNS kivonást követően, a 16S rRNS gént kódoló szakaszt PCR segítségével felszaporítottuk (Weisburg és mtsai, 1991). A PCR termékeket restriktációs analízissel (ARDRA) nyert hasítási mintázatuk alapján csoportosítottuk. A csoportok reprezentánsainak taxonómiai besorolását a bázisrend elemzés során kapott szekvenciák alapján végeztük el internetes adatbázisok (EzTaxon, BLAST) felhasználásával (Kim és mtsai, 2012; Altschul és mtsai, 1997).

A tenyésztéstől független molekuláris biológiai vizsgálatokhoz a megközelítőleg 500 mg-nyi béltartalomból DNS izoláló kit (Ultra Clean Soil DNS izoláló kit Mo-Bio) segítségével vontuk ki a közösségi DNS-t. A különböző mintákra jellemző baktériumközösségek filogenetikai diverzitását DGGE segítségével (Muyzer és Smalla, 1998) vizsgáltuk. A sávmintázatot TotalLab v 2006 szoftverrel (TL 120) értékeltük ki. A gélből kivágott, tisztított DNS-t a Sanger-féle módszer automatizált változatával szekvenáltuk, majd a kapott bázissorrendeket szintén internetes adatbázisok segítségével azonosítottuk.

Eredmények és értékelésük

A három busa egyed béltartalom mintáinak kvantitatív bakteriológiai eredményeit összehasonlítva megállapíthatjuk, hogy a fehér busánál (1109/5E) az előbél 10^6 nagyságrendű csíraszama a középbélben (1109/5K) 10^8 értékre emelkedett, majd az utóbélben (1109/5U) ismét alacsonyabb (10^6 - 10^7) lett (1. táblázat). A két hibrid busa esetén az egyes bélszakaszok csíraszama közt nem volt jelentős különbség, de míg a 1109/3 számjelzésű állatban 10^6 , addig a 1109/6 jelzésűben 10^7 nagyságrendet ért el a baktériumok 1 g béltartalomra becsült telepszáma.

A kvalitatív mikrobiológiai vizsgálatok során a fehér busa béltartalmából (1109/5 minta), tenyésztéssel a Bacteria domén négy filogenetikai törzsének, a Proteobacteria (*Roseomonas*, *Paracoccus*, *Brevundimonas*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Schewanella*, *Klebsiella*), a Deinococcus-Thermus (*Deinococcus*), az Actinobacteria (*Streptomyces*, *Micrococcus*, *Kocuria*, *Rothia*) és a Firmicutes (*Bacillus*, *Lactococcus*) 14 nemzetségét (2. táblázat), a DGGE molekuláris módszerével pedig még a Cyanobacteria törzs 3 (*Planktothrix*, *Phormidium*, *Microcystis*)

és a *Fusobacteria* törzs 1 nemzetségének nemzetségének (*Cetobacterium*) képviselőit mutattuk ki (3. táblázat).

Az elő-, közép- és utóbél szakaszok tenyésztésén alapuló összehasonlító bakteriológiai vizsgálata alapján a

Proteobacteria törzs képviselői bár csökkenő diverzitással, de mindhárom bélszakaszban jelen voltak: az előbélben 5, a középbélben 3, míg az utóbélben csak 2 fajjal képviselve.

| Bus a jelzése | Előbél (E) | | | Középbél (K) | | | Utóbél (U) | | |
|---------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | C | N | R | C | N | R | C | N | R |
| 1109/3 | 1,9x10 ⁶ | 5,2x10 ⁶ | 6,7x10 ⁶ | 5,4x10 ⁶ | 8,1x10 ⁶ | 9,1x10 ⁶ | 8,7x10 ⁶ | 3,6x10 ⁶ | 4,2x10 ⁶ |
| 1109/5 | - | 6,4x10 ⁶ | 3,6x10 ⁶ | 2,6x10 ⁸ | 2,8x10 ⁸ | 4,1x10 ⁸ | 2,2x10 ⁶ | 1,7x10 ⁷ | 9,3x10 ⁶ |
| 1109/6 | 1,8x10 ⁷ | 1,7x10 ⁷ | 2,5x10 ⁷ | 9,3x10 ⁶ | 2,2x10 ⁷ | 3,6x10 ⁷ | 9,9x10 ⁶ | 1,8x10 ⁷ | 2,5x10 ⁷ |

1. táblázat Egy fehér (1109/5) és két hibrid busa (1109/3, 1109/6) egyed 1g béltartalomra becsült csíraszám három különböző (C, Czapek agar; N, Nutrient agar; R, R2A agar) táptalajon

Az *Actinobacteria* törzset nézve, az előbélből 2, a középbélből 4, míg az utóbélből csak 1 faj képviselőjét izoláltuk. A *Firmicutes* törzs tagjai közül az előbélből a *Bacillus*, az utóbélből pedig a *Lactococcus* nemzetségbe tartozó 1-1 faj képviselője került elő. A *Deinococcus-Thermus* törzs egyetlen képviselője, a *Deinococcus proteolyticus* csak a középbéli szakaszból volt kimutatható (2. táblázat). A baktériumközösségek faji összetétele az egyes bélszakaszokat tekintve is különböző volt.

A tenyésztésbe vont baktériumok közül 13 fajt csak egy-egy bélszakaszból izoláltunk, és mindössze 3 mutatott átfedést az egyes szakaszok között. Az *Aeromonas veronii*-t az elő- és középbéli, a *Micrococcus yunnaensis*-t a közép és utóbél szakaszokból, az *Acinetobacter lwoffii*-t pedig mindhárom bélszakaszból sikerült tenyésztésbe vonni.

| 1109/5 minta | | | A <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> bélsatornájából izolált törzsek taxonómiai besorolása | | |
|--------------|---|---|--|---|--------------------|
| E | K | U | Filogenetikai csoport | Legközelebbi rokon baktériumfaj (EzTaxon) | Hasonlósági % (bp) |
| - | + | - | Alphaproteobacteria | <i>Roseomonas mucosa</i> (AF538712) | 100 (747/747) |
| - | - | + | Alphaproteobacteria | <i>Paracoccus yeei</i> (AY014173) | 100 (733/733) |
| + | - | - | Alphaproteobacteria | <i>Brevundimonas vesicularis</i> (AJ227780) | 99,46 (729/737) |
| + | + | - | Gammaproteobacteria | <i>Aeromonas veronii</i> (X60414) | 100 (699/699) |
| + | + | + | Gammaproteobacteria | <i>Acinetobacter lwoffii</i> (X81665) | 100 (670/670) |
| + | - | - | Gammaproteobacteria | <i>Shewanella oneidensis</i> (AE014299) | 98,54 (609/618) |
| + | - | - | Gammaproteobacteria | <i>Klebsiella singaporensis</i> (AF250285) | 98,7 (455/461) |
| - | + | - | Deinococcus-Thermus | <i>Deinococcus proteolyticus</i> (CP002536) | 97,67 (670/686) |
| + | - | - | Actinobacteria | <i>Streptomyces microflavus</i> (AB184284) | 100 (707/707) |
| + | - | - | Actinobacteria | <i>Micrococcus endophyticus</i> (EU005372) | 100 (612/612) |
| - | + | - | Actinobacteria | <i>Kocuria rhizophila</i> (Y16263) | 99,86 (687/688) |
| - | + | + | Actinobacteria | <i>Micrococcus yunnaensis</i> (FJ214355) | 99,71 (695/697) |
| - | + | - | Actinobacteria | <i>Micrococcus flavus</i> (JF2817541) | 98,98 (580/586) |
| - | + | - | Actinobacteria | <i>Rothia nasimurium</i> (AJ131121) | 98,15 (689/702) |
| - | - | + | Firmicutes | <i>Lactococcus garvieae</i> (AP009332) | 100 (694/694) |
| + | - | - | Firmicutes | <i>Bacillus halmapalus</i> (X76447) | 98,59 (699/709) |

2. táblázat A *Hypophthalmichthys molitrix* béltartalom mintákból kitenyésztett baktériumtörzsek meghatározásának eredménye

Az előbél baktériumközösségét a *Proteobacteria* törzs tagjainak dominanciája jellemezte: így az oligotróf környezetekre jellemző *Brevundimonas vesicularis*, a vizekből és halak (pl. a *Pelteobagrus fluvidraco*, a *Carassius auratus*, a *Merluccius productus*) bélsatornájából már korábban is kimutatott *Shewanella oneidensis* (Silva és mtsai, 2011; Wu és mtsai, 2010), az *Acinetobacter lwoffii* (Miranda és Zemelman, 2002) és az *Aeromonas veronii*. Ez utóbbit a *Cyprinus carpio*, a *Carassius auratus*, a *Clarias gariepinus*, a *Catla catla*, a *Channa striatus* és az *Anguilla anguilla* bélbiótájából is kimutatták azelőtt (Márialigeti és mtsai 1997; Martínez-Murica és mtsai, 1992; Sugita és mtsai, 1995; Rahman és mtsai, 2002). A *Klebsiella singaporensis* fajt korábban talajokból izolálták (Li és mtsai, 2004).

A *Firmicutes* törzsből, a sóűrő *Bacillus halmapalus*-t (Ki és mtsai, 2008), az aktinobaktériumok közül a különböző vizekből és halak (pl. a *Harpodon nehereus*)

béltraktusából kimutatott *Micrococcus endophyticus*-t (Shugita és mtsai, 1996), valamint a szivacsok felszínéről izolált *Streptomyces microflavus*-t (Li és mtsai, 2011) tenyésztettük ki. *Streptomyces*-eket már régebben is izoláltak balatoni halak bélsatornájából (Márialigeti és Rajki, 1982).

A középbéli szakaszban az *Acinetobacter lwoffii* és az *Aeromonas veronii* mellett megjelent az édes- és sós vizekből, valamint ezek üledékeiből ismert *Roseomonas mucosa* (Kim és mtsai, 2009). Az aktinobaktériumok közül a korábban vízinövények gyökeréről izolált *Kocuria rhizophila*-t (Kovács és mtsai, 1999), a halak bélbiótájából kimutatott *Micrococcus flavus*-t (Bansemir és mtsai, 2004), valamint a *Micrococcus yunnaensis*-t és a *Rothia nasimurium*-ot izoláltuk. A *Rothia*-hoz hasonlóan a *Deinococcus-Thermus* törzsbe tartozó *Deinococcus proteolyticus*-t is kizárólag ebből a bélszakaszból tenyésztettük ki.

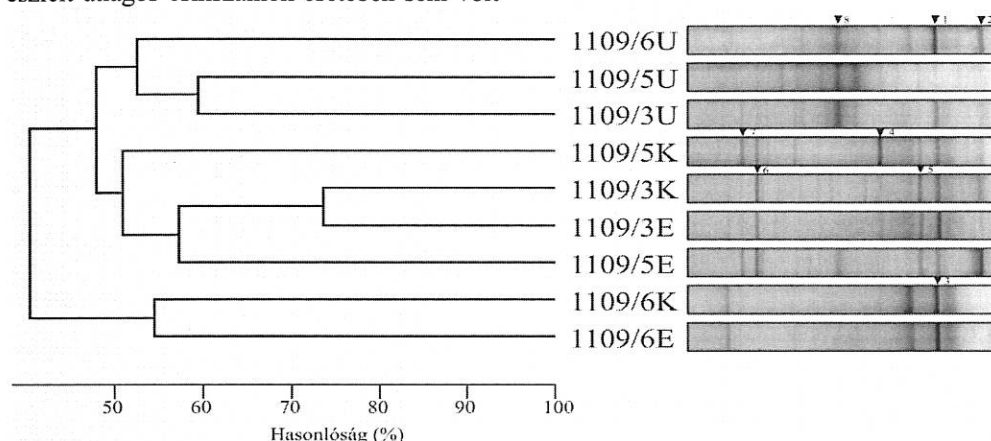
Az utóbél baktériumközösségében az *Acinetobacter lwoffii* mellett megjelent a *Paracoccus yeei*, melyet a bélcsatorna többi részéről nem sikerült kitenyésztenünk. A *Micrococcus yunnaensis* a középbélhez hasonlóan itt is képviseltette magát. A Firmicutes törzs tagjai közül pedig a korábban szivárványos pisztrángból is leírt *Lactococcus garvieae*-t (Ricci és mtsai. 2012) izoláltuk.

A busa béltartalom mintákból származó 16S rRNS-t kódoló génszakaszok DGGE vizsgálata során nyert sávmintázatok összehasonlító elemzésének eredményét a 1. ábra mutatja be.

Az egyedek egyes tápcsatorna szakaszaiból származó minták baktériumközösségeiben hasonló átlagos csíkszámot (E, 15; K, 15; U, 17) detektáltunk, és az egyes állatokban észlelt átlagos csíkszámok esetében sem volt

jelentős különbség (1109/3, 19; 1109/5, 16; 1109/6, 12). A legerősebben festődő csíkok gélcsíkokban való elhelyezkedése alapján azonban határozott elkülönülést lehetett megfigyelni az egyes minták között. Ennek alapján megállapítható, hogy az egy állatból származó elő- és középbéli minták mutatták egymáshoz a legnagyobb hasonlóságot.

Az utóbélből származó minták külön csoportot képeztek és jobban hasonlítottak egymáshoz, mint az ugyanabból a mintából származó E és K mintákhoz. A 1109/3 és a 1109/5 jelzésű egyedek béltartalom mintáinak baktériumközösségei mindhárom bélszakasz esetében jobban hasonlítottak egymáshoz, mint a 1109/6 jelzésű egyed béltartalom mintáihoz.



1. ábra. A busa béltartalom minták baktériumközösségeinek DGGE sávmintázata alapján szerkesztett UPGMA dendrogram a gélcsíkokból kivágott és bázissorrend elemzésnek alávetett különálló (jelölt és számozott) csíkok feltüntetésével

| Minta | DGGE csík | Filogenetikai csoport | Legközelebbi rokon baktériumfaj (Ez) | Hasonlóság % (bp) |
|---------|-----------|-----------------------|--|-------------------|
| 1109/6U | 1 | Cyanobacteria | <i>Planktothrix agardhii</i> (X84811) | 98,8 (420/425) |
| 1109/6K | 3 | Cyanobacteria | <i>Planktothrix agardhii</i> (X84811) | 96,2 (359/373) |
| 1109/3K | 5 | Cyanobacteria | <i>Planktothrix agardhii</i> (X84811) | 93,6 (354/378) |
| 1109/5K | 4 | Cyanobacteria | <i>Microcystis flos-aquae</i> (AF139327) | 95,2 (357/375) |
| 1109/3K | 6 | Cyanobacteria | <i>Phormidium uncinatum</i> (EF654086) | 90,9 (332/365) |
| 1109/5K | 7 | Cyanobacteria | <i>Phormidium uncinatum</i> (EF654086) | 89,5 (343/383) |
| 1109/6U | 2 | Gammaproteobacteria | <i>Aeromonas veronii</i> (X60414) | 98,9 (473/478) |
| 1109/6U | 8 | Fusobacteria | <i>Cetobacterium somerae</i> (AJ438155) | 98,4 (444/451) |

3. táblázat A busa béltartalom mintákból származó DGGE csíkok filogenetikai meghatározásának eredménye a 16S rRNS gén vizsgálata alapján

A PCR-DGGE molekuláris biológiai ujjlenyomat módszer előnye, hogy a gélből kivágott csíkokból visszanyert DNS szakaszok bázissorrendjének elemzésével a mintákban jelenlévő domináns szervezetekről taxonómiai-filogenetikai információ nyerhető.

A kivágott csíkokból származó átlagosan 400 bázispár hosszúságú DNS szakaszok 90-99 %-os hasonlóságot mutattak már ismert és tenyésztésbe vont baktériumfajokkal. A mintákban megjelent domináns csíkok között legnagyobb arányban a *Cyanobacterium* törzsbe tartozó baktériumokat azonosítottunk (3. táblázat). Közülük az 1-es és 3-as jelzésű csík előfordulása valamennyi mintában megfigyelhető volt, míg az 5-ös és 6-os csík megjelenése a 3E, 3K, és az 5E, 5K mintákra volt jellemző. A 4-es és 7-es csík ugyanakkor az 5E-, és 5K mintákra volt a legjellemzőbb. A 2-es csíkból származó DNS-t a tenyésztéssel is

kimutatott *Aeromonas veronii* fajhoz tartozónak határoztuk meg, mely a 6E és 6K minták kivételével minden mintában jelen volt. A 8-as csíkból származó DNS-t *Cetobacterium somerae* fajhoz tartozónak azonosítottuk, mely vizsgálataink során mindhárom busa minta utóbél szakaszában dominánsként fordult elő. Ezt a Gram-negatív, mikroaerotoleráns kemoorganotróf anyagcseréjű szervezetet korábban is kimutatták egyes édesvízi halak tápcsatornájából (Finegold és mtsai, 2003; Tsuchiya és mtsai, 2008).

Összefoglalás

A balatoni busák tápcsatornájának mikrobiológiai vizsgálata fajban gazdag baktériumközösségek jelenlétére mutatott rá. A vizsgált busa egyedek béltraktusa számos aerob és fakultatív anaerob, fakultatív patogén, de enzimtermelése révén akár pozitív

hatást is kifejteni képes baktériumfaj képviselőjének ad otthont.

Köszönetnyilvánítás

Jelen kutatást az OTKA K83893 számú pályázat támogatásával végeztük.

Irodalom

- Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., Lipman, D. J. (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*. 1;25(17) 3389-3402.
- Bansemir, A., Just, N., Michalik, M., Lindequist, U., Lalk, M. (2004) Extracts and sesquiterpene derivatives from the Red Alga *Laurencia chondrioides* with antibacterial activity against fish and human pathogenic bacteria. *Chemical Biodiversity*. 1, 463-467.
- Boros, G., Mozsár, A., Petes, K., Mátyás, K., Józsa, V., Tátrai, I. (2012) A busa élőhelye, táplálkozása, növekedése és szaporodása a Balatonban. *Hidrológiai Közöny*. 92, 12-14.
- Finegold, S. M., Vaisanen, M. L., Molitoris, D. R., Tomzynski, T. J., Song, Y., Liu, C., Collins, M. D., Lawson, P. A. (2003) *Cetobacterium somerae* sp. nov. from human feces and emended description of the genus *Cetobacterium*. *Systematic and Applied Microbiology*. 26, 177-181.
- Ki, J.-S., Zhang, W., Qian, P.-Y. (2008) Discovery of marine *Bacillus* species by 16S rRNA and *rpoB* comparisons and their usefulness for species identification. *Journal of Microbiological Methods*. 77, 48-57.
- Kim, M. S., Baik, K. S., Park, S. C., Rhee, M. S., Oh, H. M., Seong, C. N. (2009) *Roseomonas frigidaquae* sp. nov., isolated from a water-cooling system. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 59, 1630-1634.
- Kim, O. S., Cho, Y. J., Lee, K., Yoon, S. H., Kim, M., Na, H., Park, S. C., Jeon, Y. S., Lee, J. H., Yi, H., Won, S., Chun, J. (2012). Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA Gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. *Int J Systematic and Evolutionary Microbiology*. 62, 716-721.
- Kovács, G., Burghardt, J., Pradella, S., Schumann, P., Stackebrandt, E., Márialigeti, K. (1999) *Kocuria palustris* sp. nov. and *Kocuria rhizophila* sp. nov., isolated from the rhizoplane of the narrow-leaved cattail (*Typha angustifolia*). *International Journal of Systematic Bacteriology*. 49, 167-173.
- Li, K., Li, Q.-L., Ji, N.-Y., Liu, B., Zhang, W., Cao, X.-P. (2011) Deoxyuridines from the marine sponge associated actinomycete *Streptomyces microflavus*. *Marine Drugs*. 9, 690-695.
- Li, X., Zhang, D., Chen, F., Ma, J., Dong, Y., Zhang, L. (2004) *Klebsiella singaporensis* sp. nov., a novel isomaltulose-producing bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 54, 2131-2136.
- Márialigeti, K., Rajki, K. (1982) Sugárgombák szóródása balatoni halfajok bélcsatornáiban. MTA Biológiai Tudományok Osztályának Közleményei. Akadémiai Kiadó, Budapest. pp. 305-311.
- Márialigeti, K., Romsics, Cs., Kovács, G., Halbritter, T. (1997) Balatoni angolnák kopolyúrégióinak összehasonlító bakteriológiai vizsgálata. A Balaton Kutatásának 1997-es eredményei, Kiadja a Magyar Tudományos Akadémia Veszprémi Területi Bizottsága és a Miniszterelnöki Hivatal Balatoni Titkársága. pp. 149-152.
- Martinez-Murcia, A. J., Benlloch, S., Collins, M. D. (1992) Phylogenetic interrelationships of members of the genera *Aeromonas* and *Plesiomonas* as determined by 16S ribosomal DNA sequencing: lack of congruence with results of DNA-DNA hybridizations. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 42, 412-421.
- Miranda, C. D., Zemelman, R. (2002) Antimicrobial multiresistance in bacteria isolated from freshwater Chilean salmon farms. *Science of the Total Environment*. 293, 207-218.
- Muyzer, G., Smalla, K. (1998) Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in Microbial Ecology. *Antonie van Leeuwenhoek*. 73, 127-141.
- Rahman, M., Colque-Navarro, P., Kühn, I., Huys, G., Swings, J., Möllby, R. (2002) Identification and characterization of pathogenic *Aeromonas veronii* biovar *sobria* associated with epizootic ulcerative syndrome in fish in Bangladesh. *Applied Environmental Microbiology*. 68, 650.
- Ricci, G., Ferrario, C., Borgo, F., Rollando, A., Fortina, M. G. (2012) Genome sequences of *Lactococcus garvieae* TB25, isolated from Italian cheese, and *Lactococcus garvieae* LG9, isolated from Italian rainbow trout. *Journal Bacteriology*. 194, 1249-1250.
- Silva, F. C. P., Nicoli, J. R., Zambonino-Infante, J. L., Kaushik, S., Gastesoupe, F.-J. (2011) Influence of the diet on microbial diversity of faecal and gastrointestinal contents in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and intestinal contents in goldfish (*Carassius auratus*). *Federation of European Microbiological Societies*. 78, 285-296.
- Sugita, H., Shibuya, K., Shimooka, H., Deguchi, Y. (1996) Antibacterial abilities of intestinal bacteria in freshwater cultured fish. *Aquaculture*. 145, 195-203.
- Sugita, H., Tanaka, K., Yoshinami, M., Deguchi, Y. (1995) Distribution of *Aeromonas* species in the intestinal tracts of river fish. *Applied and Environmental Microbiology*. 61, 4128-4130.
- Tátrai, I., Józsa, V., György, Á., Havasi, M., Szabó, I. (2005) A busa biológiai szerepének és hatásának vizsgálata a Balatonban. A Balaton kutatásának 2004.évi eredményei MTA Budapest. ISSN 1419-1075, pp. 93-101.
- Tsuchiya, C., Sakata, T., Sugita, H. (2008) Novel ecological niche of *Cetobacterium somerae*, an anaerobic bacterium in the intestinal tracts of freshwater fish. *Letters Applied Microbiology*. 46, 43-48.
- Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A., Lane, D. J. (1991) 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*. 173, 697-701.
- Wu, S., Gao, T., Zheng, Y., Wang, W., Cheng, Y., Wang, G. (2010) Microbial diversity of intestinal contents and mucus in yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Aquaculture*. 303, 1-7.

The first results on the bacterial community structures of the intestinal tracts of the Asian carps living in Lake Balaton

Kristóf László, Katalin Jáger, Gergely Krett, Gergely Boros, András Specziár, Andrea K. Borsodi

Abstract: Since the last official stocking of filter feeding Asian carps nearly 30 years ago, silver (*Hypophthalmichthys molitrix*) and bighead (*Hypophthalmichthys nobilis*) carps and their hybrids still occur in large numbers in Lake Balaton. They are high meat yield animals and important components of fish populations by consumption of zooplankton and organic detritus. However, little information is available about their nutritional habits. In the present study bacteriological examination of fore-, mid- and hindgut-section of the intestinal contents of three carps caught in Lake Balaton in September 2011 was performed by using cultivation based and molecular biological methods. An average of 10^7 - 10^8 / g CFU values was determined from the intestinal contents independently of the composition of the medium used. Among the strains isolated from the silver carps and identified according to their 16S rDNA sequence analysis, members of species *Aeromonas veronii*, *Brevundimonas vesicularis*, *Micrococcus endophyticus* and *Bacillus halmapalus* were the most abundant. From the midgut section representatives of *Aeromonas veronii*, *Micrococcus yunnanensis* and *Roseomonas mucosa*, while in the hindgut section *Acinetobacter lwoffii*, *Paracoccus yeei* and *Lactococcus garvieae* were identified frequently. Analysis of band patterns of 16S rRNA gene sequences, obtained from the examination of the carp intestinal contents by denaturing gradient gel electrophoresis, indicated that bacterial community structures of the fore- and midguts from the same fish showed higher similarities than those of hindguts. Hindgut bacterial communities derived from different individuals formed a distinct similarity group.

Keywords: Asian carp, microbial community of the intestinal tract, diversity, cultivation, DGGE.